

English equivalent  
US 7,601,364



PCT  
WELTOORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICH NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

B100

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :  A23L 1/00		A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/08948  (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 24. Februar 2000 (24.02.00)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP99/05878  (22) Internationales Anmeldedatum: 11. August 1999 (11.08.99)		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BR, CA, CN, CZ, HU, ID, IL, IN, JP, LT, LV, MK, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, US, VN, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).	
(30) Prioritätsdaten: 198 36 339.7 11. August 1998 (11.08.98) DE		Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): N.V. NUTRICIA [NL/NL]; Eerste Stationsstraat 186, NL-2712 HM Zoetermeer (NL).		(72) Erfinder; und  (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SAWATZKI, Günther [DE/DE]; Ricarda-Huch-Strasse 13, D-35516 Münzenberg (DE). STAHL, Bernd [DE/DE]; Pfingstweidstrasse 39, D-61381 Friedrichsdorf (DE).	
(74) Anwalt: KÖSTER, Hajo; Propindus, Jaeger und Köster, Pippinplatz 4a, D-82131 Gauting b. München (DE).			

(54) Title: CARBOHYDRATES MIXTURE

(54) Bezeichnung: KOHLENHYDRATMISCHUNGEN

## (57) Abstract

The present invention relates to a mixture of carbohydrates which is intended for dietetic food products and for pharmaceutical products containing a plurality of carbohydrates. This mixture is characterised in that it contains or is composed of two essentially soluble carbohydrate constituents A and B which remain undigested in the gastric-intestinal tract and which can reach the large intestine without being resorbed. The carbohydrate constituent A contains at least one monosaccharide or at least one oligosaccharide (disaccharide to hexasaccharide) or a mixture of at least two of said saccharides, while the carbohydrate constituent B contains a polysaccharide (from an heptasaccharide) or a mixture of at least two polysaccharides. The constituent A is present in an amount of between 5 and 95 wt.% while the constituent B is present in an amount of between 95 and 5 wt.% relative to the sum of the A and B constituents (100 wt.%). At least 80 wt.% of the carbohydrates/saccharides in the A and B constituents have a prebiotic action. These carbohydrate mixtures have a nutritive action and also stimulate the health-enhancing micro-organisms which are present in the natural flora of the large intestine.

## (57) Zusammenfassung

Erfnungsgemäß wird eine Kohlenhydratmischung für diätetische Nahrungen und Pharmazeutika enthaltend mehrere Kohlenhydrate bereitgestellt. Diese Kohlenhydratmischung zeichnet sich dadurch aus, daß sie zwei unterschiedliche, im wesentlichen lösliche Kohlenhydratkomponenten A und B, die im Magen-Darm-Trakt unverdaut bleiben und nicht resorbiert bis zum Dickdarm gelangen, enthalten oder daraus bestehen, die Kohlenhydratkomponente A aus mindestens einem Monosaccharid oder aus mindestens einem Oligosaccharid (Disaccharid bis zu Hexasaccharid) oder aus einer Mischung aus zweien oder mehreren dieser Saccharide aufgebaut ist, die Kohlenhydratkomponente B aus einem Polysaccharid (ab Heptasaccharid) oder aus einer Mischung aus zwei oder mehreren Polysacchariden aufgebaut ist, die Kohlenhydratkomponente A = 5 bis 95 Gew.-% und die Kohlenhydratkomponente B = 5 bis 95 Gew.-% der Summe der Kohlenhydratkomponenten A + B (=100 Gew.-%) ausmachen, und mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkomponente A und B präbiotisch wirken. Die erfungsgemäßen Kohlenhydratmischungen verfügen nicht nur über einen nutritiven Effekt, sondern stimulieren auch gesundheitsfördernde in der natürlichen Dickdarmflora vorhandene Mikroorganismen.

**LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

## Kohlenhydratmischungen

### BESCHREIBUNG

Die Erfindung betrifft Kohlenhydratmischungen für diätetische Nahrungen und Pharmazeutika, diese Kohlenhydratmischungen enthaltende  
5 diätetische und pharmazeutische Mittel sowie die Verwendung dieser Kohlenhydratmischungen zur Förderung der humanen Dickdarmflora.

Kohlenhydrate stellen bekanntlich einen der wesentlichen Grundpfeiler der Ernährung dar. Daher werden die unterschiedlichsten Kohlenhydrate den verschiedensten Nahrungen und auch Pharmazeutika beigegeben.

10 Die Aufgabe der Kohlenhydrate ist daher primär nutritiver Art bzw. sie fungieren als Ballaststoff.

Die Kohlenhydrate bestehen aus Monosacchariden bzw. setzen sich aus diesen zusammen. Je nach Polymerisationsgrad werden die Kohlenhydrate als Oligosaccharide bzw. Polysaccharide oder Glycane bezeichnet.

15 Die Kohlenhydrate liegen dabei sowohl als freie Oligosaccharide als auch in gebundener Form vor, beispielsweise in Glycoproteinen, Proteoglycanen und Glycolipiden.

Aufgrund der Variabilität der die Kohlenhydrate aufbauenden Monomere, der Position der glycosidischen Bindung und der Anomerie der Kohlenhydrate und deren Konjugate stellen diese Kohlenhydrate und deren Konjugate eine extrem heterogene und umfangreiche Substanzklasse dar.

Kohlenhydrate haben nun die unterschiedlichsten biologischen Funktionen. So beeinflussen sie beispielsweise die bakterielle Besiedlung des  
20 Dickdarmes, die eine Voraussetzung für dessen normale Funktion ist. Die Mikroflora des Dickdarmes greift auf sehr komplexe Weise in die intestinalen Funktionen ein. Dieser Einfluß wird vor allem durch die Fermentierung von im Dünndarm nicht resorbierten Nahrungsbestandteilen

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

ausgeübt. Die Fermentierung schließt eine Vielzahl von Funktionen wie den weiteren Aufschluß dieser Nahrungsbestandteile, die Entgiftung von endogenen entstandenen Metaboliten, die Synthese von neuen Metaboliten mit zum Teil sehr spezifischer Wirkung, die Rückresorption von 5 Gallensäuren und viele andere Prozesse ein. Die normale Mikroflora wirkt auch dadurch gesundheitsfördernd, daß sie das Wachstum anderer pathogener Mikroorganismen unterdrückt.

Bakterien, die Milchsäure als ihr wichtigstes Stoffwechselendprodukt erzeugen (sog. Milchsäurebakterien) spielen als wichtige Vertreter der 10 normalen Mikroflora des Dickdarmes eine ganz wesentliche Rolle. Beispiele für die Gruppe sind Bakterien der Genera *Lactobacillus* und *Bifidobacterium*. Es werden darum schon seit längerer Zeit Bemühungen unternommen, durch diätetische Maßnahmen die Entwicklung einer milchsäurebakterien-dominanten Darmflora zu steuern. Dies ist besonders dann wichtig, wenn entweder durch entwicklungsbedingte Prozesse 15 wie z.B. bei Neugeborenen oder durch krankhafte Zustände wie z.B. nach enteraler antibiotischer oder anderer medikamentöser Therapie oder während oder nach enteralen Infektionen eine normale Darmflora nicht oder nicht ausreichend vorhanden ist.

20 Kohlenhydrate werden nun zunehmend in Nahrungen, "Functional Food" und Pharmazeutika unter dem Aspekt einer biologischen Wirksamkeit eingesetzt. So ist es beispielsweise bekannt, daß einige Kohlenhydrate einen wachstumsfördernden Effekt auf verschiedene Spezies der *Bifidobakterien* als auch der *Lactobacilli* aufweisen. So haben beispielsweise 25 *Galacto-Oligosaccharide* einen wachstumsfördernden Effekt auf *Lactobacillus casei*. Bisher wurden jedoch nur sehr spezielle, über eine bestimmte Eigenschaft verfügende Kohlenhydratspezies zur Förderung bestimmter biologischer Wirkungen eingesetzt.

So beschreibt beispielsweise die WO 98/26787 den Einsatz von beta-30 Glucan und von davon abgeleiteten Verbindungen zur Förderung der

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

Population von Milchsäure produzierenden Mikroorganismen im Gastro-intestinaltrakt von Mensch und Tier. Auch können Mischungen Anwendung finden, die weitere präbiotische Substanzen enthalten, wobei letztere jedoch nicht genauer spezifiziert sind.

- 5 Ferner sind aus der WO 96/13271 Mischungen bekannt, die neben Immunglobulinen auch verschiedene Oligo- und und Polysaccharide enthalten. Diese Mischungen werden als diätetisches Supplement eingesetzt, das bei oraler Verabreichung gegen verschiedene gastrointestinale Pathogene wirksam sein soll. Die eingesetzten Saccharide werden
- 10 dabei als lösliche diätetische Faser bezeichnet, wobei es sich um Inulin, Fructo-Oligosaccharide, Pectin, Guargummi und Mischungen davon handelt.

Aus der EP 0 756 828 A1 sind ferner faserhaltige Nährmittelzusammensetzungen beschrieben, die neben Oligosacchariden und/oder Stärke

- 15 lösliche, keine Stärke darstellenden Polysaccharide und unlösliche, keine Stärke darstellenden Polysaccharide enthalten.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, verbesserte Kohlenhydratmischungen bereitzustellen, die diätetischen Nahrungen sowie Pharmazeutika einverleibt werden können und neben einem nutritiven Effekt

- 20 auch gesundheitsfördernde Mikroorganismen, die in der natürlichen Dickdarmflora vorhanden sind, stimulieren.

Gelöst wird diese Aufgabe durch Kohlenhydratmischungen gemäß der Lehre der Ansprüche.

Die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen enthalten somit mindestens zwei unterschiedliche, im wesentlichen lösliche Kohlenhydratkomponenten A und B, die im Magen-Darm-Trakt unverdaut bleiben und nicht resorbiert bis zum Dickdarm gelangen. Die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen können auch ausschließlich aus diesen beiden Kohlenhydratkomponenten A und B bestehen.

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

Die Kohlenhydratkompone A besteht dabei mindestens aus einem Monosaccharid oder aus mindestens einem Oligosaccharid. Als Oligosaccharide werden dabei solche mit 2 bis 7 Monosaccharideinheiten verstanden. Bei den Oligosacchariden handelt es sich somit um Di-, Tri-,  
5 Tetra-, Penta- und Hexasaccharide. Die Kohlenhydratkompone A kann auch aus einer Mischung aus zweien oder mehreren der genannten Saccharide aufgebaut sein. Sie kann somit nur aus einem Monosaccharid oder aus einer Mischung von zweien oder mehreren Monosacchariden oder aus einer Mischung aus einem Monosaccharid oder mehreren  
10 Monosacchariden mit einem Oligosaccharid oder mehreren Oligosacchariden bestehen. Sie kann auch aus einer beliebig großen Anzahl verschiedener derartiger Monosaccharide und/oder Oligosaccharide bestehen.

Die Kohlenhydratkompone B besteht aus mindestens einem Polysaccharid mit 7 oder mehr Monosaccharideinheiten. Als Polysaccharide werden dabei solche ab Heptasaccharid (beispielsweise Hepta-, Okta-, Nona-, Decasaccharid usw.) verstanden. Auch die Kohlenhydratkompone B kann aus nur einem derartigen Polysaccharid oder aus einer beliebig großen Anzahl von derartigen Polysacchariden bestehen.

20 Wenn daher nachstehend und auch in den Patentansprüchen von einer Kohlenhydratkompone A bzw. B die Rede ist, dann kann es sich um alle diese verschiedenen Varianten handeln.

Die Kohlenhydratkompone A macht dabei bis 95 Gew.-% der Summe der Kohlenhydratkompone A und der Kohlenhydratkompone B (A+B=100 Gew.-%) aus. Die Kohlenhydratkompone B macht 5 bis 95 Gew.-% der Summe aus der Kohlenhydratkompone A und der Kohlenhydratkompone B aus.

Mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate bzw. Saccharide der Summe der Kohlenhydratkompone A und B wirken dabei präbiotisch. Vor-  
30 zugsweise wirken mindestens 80 Gew.-% der zur Kohlenhydratkompone

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

nente A gehörigen Kohlenhydrate und auch mindestens 80 Gew.-% der zur Kohlenhydratkompone nte B gehörenden p äbiotisch. Anders ausgedrückt, vorzugsweise mindestens jeweils 80 Gew.-% der Kohlenhydrate bzw. der Saccharide der Kohlenhydratkompone nten A und B müssen 5 unverdaut (und daher nicht im Dünndarm resorbierbar) in den Dickdarm gelangen. Mit anderen Worten, diese Kohlenhydrate bzw. Saccharide der Kohlenhydratkompone nten A und B werden im Magen-Darm-Trakt weder im Magen noch im Dünndarm resorbiert und verdaut, sondern gelangen als solche in den Dickdarm.

10 Der Anteil der nicht p äbiotisch wirkenden Kohlenhydrate bzw. Saccharide bei den Kohlenhydratkompone nten A und B beträgt somit maximal 20 Gew.-%. Bei diesen Kohlenhydraten bzw. Sacchariden handelt es sich um solche, die zwar löslich sind, jedoch unverdaut ausgeschieden werden können. Diese Kohlenhydrate können einen physikalischen Effekt 15 bewirken, indem Sie beispielsweise das Stuhlvolumen erhöhen oder aber eine Wasserbindung ausüben.

Als lösliche Kohlenhydrate im Sinne der Erfindung sind solche zu verstehen, die in Wasser in einer Konzentration von mindestens 1g/l bei Raumtemperatur eine homogene Lösung im physikalischen Sinne (z.B. 20 gemäß R ömpfs Chemie Lexikon) bilden.

Wie bereits dargelegt, können die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen ausschließlich aus den Kohlenhydratkompone nten A und B bestehen oder diese enthalten. Zur Bestimmung des Anteiles, welche die Kohlenhydratkompone nten A und B beispielsweise in einem diätetischen oder pharmazeutischen Produkt ausmachen, geht man wie folgt 25 vor:

In einer ersten Stufe werden alle löslichen Kohlenhydrate aus dem Produkt mit Wasser extrahiert. Fette und Proteine werden aus dem Extrakt entfernt.

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

In einer zweiten Stufe werden die löslichen Kohlenhydrate bzw. der Extrakt mit humanen Enzymen, beispielsweise humaner Amylase, humanem Pankreassekret oder Dünndarm-Bürstensaumpräparation, verdaut. Die dabei resultierenden nicht-verdaulichen Kohlenhydrate (mit Ausnahme 5 der in diesem in-vitro Experiment entstehenden, in-vivo-resorbierbaren Monosaccharide) machen die beiden Kohlenhydratkomponenten A und B aus und müssen zu 80 % präbiotisch wirken.

Unter einem präbiotisch wirkenden Kohlenhydrat wird erfindungsgemäß ein solches verstanden, das unverdaulich (und daher nicht im Dünndarm 10 resorbierbar) in den Dickdarm gelangt und dort selektiv das Wachstum und/oder die Aktivität von einer oder einer begrenzten Zahl bakterieller Spezies im Darm begünstigt und daher die Gesundheit fördert. Diese präbiotische Wirkung derartiger Kohlenhydrate und deren genauere Wirkungsweise sind näher beschrieben in „G. R. Gibson & M. B. Roberfroid, 15 J. Nutr. 1995; 125: 1401 - 1412“, worauf hiermit ausdrücklich Bezug genommen und zum Offenbarungsgehalt der vorliegenden Unterlagen gemacht wird.

Erfindungsgemäße Kohlenhydratmischungen sind somit solche, bei denen die im oben beschriebenen Sinne löslichen und unverdaulichen Kohlenhydrate die hier näher beschriebenen Kriterien erfüllen und die Kohlenhydratkomponenten A und B ausmachen.

Neben diesen Kohlenhydratkomponenten A und B können noch andere Kohlenhydrate vorhanden sein. Dazu zählen 1.) die zwar löslichen, jedoch verdaubaren Kohlenhydrate, die gemäß der oben beschriebenen zweiten Stufe verdaubar sind, und 2.) die unlöslichen Kohlenhydrate, die resorbierbar/verdaubar oder auch nicht resorbierbar/verdaubar sind.

Diese unter 1.) und 2.) aufgezählten Kohlenhydrate können an sich in beliebigen Mengen neben den Kohlenhydratkomponenten A und B vorliegen je nach dem gewünschten Endprodukt. Vorzugsweise machen die

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

unlöslichen Kohlenhydrate 0-10 Gew.-% der Kohlenhydratmischungen aus.

Die Kohlenhydratkompone A kann beispielsweise aus einem oder mehreren der folgenden Kohlenhydraten bestehen:  $\beta$ -Galacto-  
5 Oligosaccharide,  $\alpha$ -Galacto-Oligosaccharide, Fructo-Oligosaccharide, Fuco-Oligosaccharide, Manno-Oligosaccharide, Xylo-Oligosaccharide, Si-  
alyl-Oligosaccharide, N-Glycoprotein-Oligosaccharide, O-Glycoprotein-  
Oligosaccharide, Glycolipid-Oligosaccharide, Cello-Oligosaccharide,  
Chitosan-Oligosaccharide, Chitin-Oligosaccharide, Galacturon-  
10 Oligosaccharide, Glucurono-Oligosaccharide,  $\beta$ -Glucan-Oligosaccharide, Arabinoxyl-Oligosaccharide, Arabinogalacto-Oligosaccharide, Xyloglu-  
co-Oligosaccharide, Galactomanno-Oligosaccharide, Rhamno-  
Oligosaccharide.

Die Kohlenhydratkompone B kann beispielsweise aus einem oder mehreren der folgenden Kohlenhydraten bzw. Sacchariden aufgebaut sein:

Lösliche: Fructane, Galactane, Fucoidane, Arabinane, Xylane, Xanthane,  $\beta$ -Glucane, Galacturonane, N-Glycane, O-Glycane, Hyaluronsäuren, Chondroitine, Xyloglucane, Arabinogalactane, Alginate, Carageenane,  
20 Galactomannans, Arabinoxylane, Glycolipid-Glycane, Glycопrotein-Glycane, Proteoglycane.

Durch die gezielte Kombination von Oligosacchariden und Polysacchariden und somit durch die gleichzeitige Anwesenheit der Kohlenhydratkompone A und der Kohlenhydratkompone B können die gesundheitsfördernden Mikroorganismen im Dickdarm wesentlich wirksamer gefördert werden als mit nur einer derartigen Kohlenhydratkompone. So ist es durch die Verabreichung der erfindungsgemäßen Kombination möglich, eine normale Dickdarmflora sehr schnell wieder herzustellen, zu erhalten oder ein Abweichen der Darmflora in Belastungssituationen 30 präventiv zu vermeiden und somit die bakterielle Besiedlung des Dick-

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

darmes wirksamer zu beeinflussen als mit den bisher eingesetzten Kohlenhydraten.

Nach einer bevorzugten Ausführungsform bestehen sowohl die Kohlenhydratkoponente A als auch die Kohlenhydratkoponente B zu mindestens 80 Gew.-% aus Kohlenhydraten, die bifidogen sind und/oder Milchsäurebakterien fördern. Durch eine derartige Kombination von über diese Eigenschaften verfügenden Oligosacchariden und Polysacchariden kann das Wachstum der Milchsäurebakterien überraschenderweise wesentlich stärker gefördert werden als dies mit Oligosacchariden oder 10 Polysacchariden alleine der Fall ist. Dabei werden nicht nur Milchsäurebakterien, die auf natürliche Weise im Darm vorhanden sind, sondern auch solche in ihrem Wachstum gefördert, das sogar selektiv sein kann, die exogen zugeführt werden.

Neben dieser indirekten Wirkung über die Bakterien selbst und deren 15 Stoffwechselprodukte wie kurzkettige Fettsäuren (Butyrat, Propionat etc.) und damit pH-Effekte und Stimulation von Colonozyten werden auch direkte physikalische Effekte wie Peristaltik, Wassergehalt, Stuhlvolumen, mechanische Wirkung auf die Darmmukosa durch die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen positiv beeinflußt.

20 Die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen verfügen somit nicht nur über einen nutritiven Effekt sondern auch über ein breites Wirkungsspektrum. Mit den erfindungsgemäßen Mischungen können neben den oben aufgeführten biologischen Wirkungen auch noch folgende erzielt werden: Stabilisierung einer natürlichen Mikroflora, Verhinderung der 25 Adhäsion von pathogenen Substanzen/Organismen wie Toxinen, Viren, Bakterien, Pilzen, transformierten Zellen und Parasiten, Auflösung von Komplexen von Toxinen, Viren, Bakterien, Pilzen und anderen Pathogenen mit körpereigenen Zellen sowie deren Ausschleusung aus dem Körper und Beschleunigung der Wundheilung.

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

Damit eignen sich die erfindungsgemäßen Mischungen zur Prophylaxe und/oder Behandlung von Symptomen/Erkrankungen, die im Zusammenhang mit einer gestörten Darmflora beispielsweise in Folge der Assoziation/Adhäsion der genannten Substanzen und Organismen an Epithelien oder andere körpereigene Zellen stehen.

Die Kohlenhydrate bzw. Saccharide der Kohlenhydratkponenten A und B unterscheiden sich primär in ihrer Größe. Als besonders effektiv haben sich allerdings Mischungen herausgestellt, bei denen die Kohlenhydrate bzw. Saccharide der Kohlenhydratkponente A einerseits und der Kohlenhydratkponente B andererseits unterschiedlicher Struktur sind. Diese unterschiedliche Struktur kann beispielsweise die Monosaccharid-Zusammensetzung betreffen, wenn beispielsweise einerseits Fructane und andererseits Galactane Anwendung finden. Diese unterschiedliche Struktur kann auch die glycosidische Bindung betreffen (beispielsweise  $\alpha$ -Galacto-Oligosaccharide versus  $\beta$ -Galacto-Oligosaccharide oder  $\alpha$ -Glucane (Stärke) versus  $\beta$ -Glucane (Cellulose)). Sowohl die Monomer-Komposition als auch die Glycosidbindung können einen Einfluß auf das chemische Verhalten (beispielsweise Löslichkeit) und auf das physiologische Verhalten (beispielsweise Verdaubarkeit) haben.

Der Kern der erfindungsgemäßen Mischungen ist somit unter anderem darin zu sehen, daß unterschiedlich große Kohlenhydrate zur Anwendung kommen, die vorzugsweise noch mindestens zwei unterschiedlichen „Klassen“ angehören. Bei einer Verabreichung derartiger Mischungen kann ein synergistischer Effekt bezüglich der präbiotischen Wirkungen der einzelnen Substanzgruppen A und B auftreten.

Die Kohlenhydrate der Komponente A können dabei nicht nur einer Substanzklasse zugehörig sein, sondern auch aus mehreren aufgebaut sein (beispielsweise A: Galacto-Oligosaccharide plus Fuco-Oligosaccharide), während die Kohlenhydrate der Komponente B ebenfalls aus einer Sub-

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

stanzklasse und auch aus mehreren Substanzklassen stammen können (beispielsweise B:Inuline plus Xylane).

Nach einer weiterhin bevorzugten Ausführungsform machen die Kohlenhydratkoponente A 95 bis 60 Gew.-% und insbesondere ca. 90 Gew.-% 5 und die Kohlenhydratkoponente B 5 bis 40 Gew.-% und insbesondere ca. 10 Gew.-% der insgesamt vorhandenen Kohlenhydrate aus.

Insbesonders effektive Mischungen sind solche, bei denen mindestens 60 Gew.-% und insbesondere 80 bis 100 Gew.-% der Kohlenhydrate der Kohlenhydratkoponente A zur Gruppe der Galacto-Oligosaccharide 10 und mindestens 60 Gew.-% und insbesondere 80 bis 100 Gew.-% der Kohlenhydrate der Kohlenhydratkoponente B zur Gruppe der Fructo-Polysaccharide gehören. Galacto-Oligosaccharide setzen sich aus Galactoseresten in unterschiedlicher, besondere aber in  $\beta$ 1-4 und  $\beta$ 1-6 glycosidischer Bindung zusammen. Am reduzierenden Ende kann in  $\beta$ 1-4 15 glycosidischer Bindung eine Glucose vorliegen. Fructo-Polysaccharide, zu denen die Fructane, Inuline und Levane gehören, setzen sich aus Fructoseresten in  $\beta$ 2-1 und  $\beta$ -6 glycosidischer Bindung zusammen. Am reduzierenden Ende kann in  $\beta$ 2-1 glycosidischer Bindung eine Glucose vorliegen.

20 Wenn im Rahmen der vorliegenden Unterlagen von Bereichen die Rede ist, dann sind mit der Bereichsangabe zumindest alle ganzzahligen Zwischenwerte und auch alle von dem weiteren Bereich umfaßte engere Bereiche umfaßt und offenbart. Dies bedeutet somit sowohl für die Kohlenhydratkoponente A als auch für die Kohlenhydratkoponente B, die 25 beides 5 bis 95 Gew.-% ausmachen können, daß damit für beide Komponenten auch die dazwischenliegenden Werte wie 6, 7, 8, 9... 13, 14... 25, 26, 27... 30, 31, 32, 33... 38, 39, 40, 41... 47, 48, 49, 50, 51... 59, 60, 61, 62, 63... 72, 73, 74... 79, 80, 81, 82... 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93 und 94 Gew.-% umfaßt sind. Das Gleiche gilt für die Angabe, daß mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate der Kohlenhydratkoponente A 30

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

und mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate der Kohlenhydratkompone-  
nente B präbiotisch wirken bzw. Milchsäurebakterien fördern und/oder  
bifidogen sind. Der Begriff "mindestens 80 Gew.-%" bezeichnet somit  
zumindest alle Einzelwerte zwischen 80 Gew.-% und 100 Gew.-% und  
5 somit beispielsweise 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93,  
94, 95, 96, 97, 98, 99 und 100 Gew.-%. Die Kohlenhydratkomponenten  
A und B können somit auch ausschließlich aus derartigen Kohlenhydra-  
ten bestehen.

Das Mischungsverhältnis der Kohlenhydratkomponente A und der Koh-  
10 lenhydratkomponente B beträgt dabei 5 bis 95 Gew.-% bzw. 95 bis 5  
Gew.-% und insbesondere 95 bis 60 bzw. 5 bis 40 Gew.-%. Damit sind  
auch alle zumindest ganzzahligen engeren Bereiche offenbart. Somit  
kann das Gewichtsverhältnis Kohlenhydratkomponente A zu Kohlenhy-  
dratkomponente B beispielsweise 50:50, 51:49, 52:48, 53:47, 54:46,  
15 55:45, 56:44, 57:43, 58:42, 59:41, 60:40, 61:39, 62:38, 63:37, 64:36,  
65:35, 66:34, 67:33, 68:32, 69:31, 70:30, 71:29, 72:28, 73:27, 74:26,  
75:25, 76:24, 77:23, 78:22, 79:21, 80:20, 81:19, 82:18, 83:17, 84:16,  
85:15, 86:14, 87:13, 88:12, 89:11, 90:10, 91:9, 92:8, 93:7, 94:6 und 95:5  
betragen.

20 Das Molekulargewicht der Polysaccharide kann dabei bis zu einige MDa  
betragen und auf partikuläre Kohlenhydrate ausgedehnt werden. Vor-  
zugsweise werden jedoch Polysaccharidemoleküle mit bis zu maximal  
100 Monosaccharidbausteinen eingesetzt.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen kann  
25 man bisher bekannte und insbesondere für die Herstellung von Nahrungs-  
gen bzw. Nahrungsmittel eingesetzte Kohlenhydrate und Kohlenhydrat-  
mischungen einsetzen. Auch ist es möglich, bereits durch technische  
Modifikation veränderte Rohstoffe zur Anwendung zu bringen. Die Her-  
stellung der erfindungsgemäßen Mischungen kann dabei durch einfa-  
30 ches Mischen der entsprechend ausgewählten Kohlenhydrate bzw. Oli-

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

gosaccharide und Polysaccharide bzw. der Kohlenhydratmischungen hergestellt werden. Die Ausgangskomponenten müssen dabei derart miteinander vermischt werden, daß die erfindungsgemäßen Parameter bei den fertigen erfindungsgemäßen Mischungen eingehalten werden.

- 5 Als Rohstoffe können dabei Speicherkohlenhydrate (Fructane, Galacto-Oligosaccharide aus Leguminosen, Fucoidan, alpha Glucane, Laminarin, Karragenan, Mannane, Glactomannane, Agar), Pflanzengummi, N-glycosidisch gebundene Kohlenhydrate der Glycoproteine, O-glycosidisch gebundene Kohlenhydrate der Glycoproteine, Glycane der
- 10 Glycolipide, enzymatisch hergestellte Kohlenhydrate (Galacto-Oligosaccharide, Gluco-Oligosaccharide, Xylo-Oligosaccharide), bakterielle Kohlenhydrate (wie Xanthane), sowie Oligosaccharide (Galacto-Oligosaccharide, Gluco-Oligosaccharide (aus  $\alpha$ 1-2 und  $\alpha$ 1-3 Glucoseren, Xylo-Oligosaccharide), als auch Gerüstkohlenhydrate wie Cellulosen, Hemizellulosen (Arabinane, Galactane), Pectine, Chitine eingesetzt werden. Die Substanzen sollten vorzugsweise food-grade sein (s. Complex Carbohydrates in foods, British Nutrition Foundation. Chapman & Hall, London 1990). Auch ist es möglich eine enzymatische Modifikation der Rohstoffe mit Hydrolasen (beispielsweise Glycosidasen, Tranglycosidasen und Lipasen), Transferasen, Isomerasen (beispielsweise Aldolasen und Ketolasen) Oxidoreduktasen (beispielsweise Oxidasen) und Reduktasen (beispielsweise Glucosedehydrogenasen, Lyasen (beispielsweise Polysaccharidlyase) und Ligasen der Rohstoffe und Produkte durchzuführen. Ferner ist es möglich, eine technische Modifikation der
- 20 Rohstoffe und Produkte vorzunehmen, nämlich durch Druck (beispielsweise Extrusion) Temperatur (beispielsweise Karamolisierung), organische Synthesen, organische Modifizierung (beispielsweise Carboxymethylierung und Peracetylierung) saure und/oder basische Hydrolyse und Fraktionierung (beispielsweise nach Größe und/oder physikochemischen
- 25 Parametern wie Ladung und Hydrophobizität).

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

Die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen setzen sich dabei im wesentlichen aus den nachstehend aufgeführten Monosacchariden und den daraus aufgebauten Oligosacchariden sowie Polysacchariden zusammen: D-Glucose, D-Fructose, D-Galactose, D-Mannose, L-Fucose,

5 D-N-Acetylglucosamin, D-N-Acetylgalactosamin, D-Xylose, L-Rhamnose, D-Arabinose, D-Allose, D-Talose, L-Idose, D-Ribose, sowie Monosaccharide mit Carboxylgruppen wie D-Galacturonsäure, D-Glucuronsäure, D-Mannuronsäure und/oder deren methylierte Formen, sowie N-Acetylneuraminsäure, N-Glycolylneuraminsäure und/oder deren O-

10 acetylierte Formen.

Diese Monomere und die darauf aufgebauten höheren Einheiten können außerdem durch  $-\text{OSO}_3\text{H}$ - und/oder  $-\text{OPO}_3\text{H}$ -Gruppen modifiziert sein.

Gegenstand der Erfindung sind auch die erfindungsgemäßen Kohlenhydratmischungen enthaltende, diätetische und pharmazeutische Mittel

15 und die Verwendung der oben beschriebenen Kohlenhydratmischungen zur Förderung der humanen Dickdarmflora. Dieser Begriff "Förderung" stellt einen Sammelbegriff für die oben aufgeführten biologischen Wirk-samkeiten dar. Dazu zählt insbesondere die Förderung des Milchsäure-bakterienwachstums.

20 Die erfindungsgemäßen Mischungen können in folgenden Produkten vorhanden sein:

Frühgeborenen-Nahrung, Reifgeborenen-Nahrung, Kinder-Nahrung, Humanmilch Fortifier, klinische Nahrung (im allgemeinen kann die erfin-dungsgemäße Mischung in diesen Nahrungen einen Teil oder komplett

25 andere Komponenten ersetzen z.B. Lactose, Maltodextrin oder Stärke bzw. der Nahrung zugesetzt werden), Pharmazeutika, Diätetisches Sup-plement (als Sachet in Getränke).

Nachstehend sind verschiedene bevorzugte Ausführungsformen dar-stellende Kohlenhydratmischungen beschrieben. Die Angaben beziehen

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

sich dabei auf Gew.-% sofern nichts anderes angegeben ist. In den Beispielen ist dabei aufgeführt, zu welchen Kohlenhydratkomponenten A oder B die eingesetzten Kohlenhydrate gehören. Die Kohlenhydratkomponente A wird dabei lediglich mit A und die Kohlenhydratkomponente B

5 lediglich mit B bezeichnet.

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

**Beispiel 1****Zusammensetzung****90 % A = Galacto-Oligosaccharide****Transgalacto-Oligosaccharide, z.B. Elixor<sup>®</sup> (Fa. Borculo, enzymatisch  
5 aus Lactose mittels  $\beta$ -Galactosidase)****10 % B = Inulin****Inulin, z.B. Raftiline<sup>®</sup> HP (Fa. Orafti Extraktion aus Zichorien, physikalische  
sche Abtrennung der niedermolekularen Oligosaccharide)**

Zur Herstellung der Transgalacto-Oligosaccharide (Elixor<sup>®</sup>) wird Lactose  
10 mit  $\beta$ -Galactosidase behandelt. Dabei wird die Lactose katalytisch in  
Galacto-Oligosaccharide überführt, wobei eine Vielzahl in ihrer Ketten-  
länge variierender Galacto-Oligosaccharide gebildet werden. Primär  
werden dabei Disaccharide und Trisaccharide mit 3 bzw. 2 Galactose-  
einheiten erhalten.

**15 Beispiel 2****Zusammensetzung****60 % A = Galacto-Oligosaccharide****Transgalacto-Oligosaccharide (enzymatisch aus Lactose mittels  $\beta$ -  
Galactosidase)****20 40 % B = Inulin****Inulin, z.B. Raftiline<sup>®</sup> HP (Extraktion aus Zichorien, physikalische Ab-  
trennung der niedermolekularen Oligosaccharide)****Beispiel 3****Zusammensetzung**

**25 90 % A = Galacturonsäure-Oligosaccharide  
enzymatisch aus Pektin**

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

10 % B = Xylose-Polysaccharide  
enzymatisch aus Xylan (pflanzliche Hemicellulose)

Beispiel 4

Zusammensetzung

5 90 % A = Fructo-Oligosaccharide  
enzymatisch aus Inulin mittels endo-Inulinase

10 % B = Cellulose-Polysaccharide  
enzymatisch aus Cellulose mittels Cellulase

Beispiel 5

10 Zusammensetzung  
90 % A = Galacto-Oligosaccharide

10 % B = Arabinane  
enzymatisch aus pflanzlicher Hemicellulose

Beispiel 6

15 Zusammensetzung  
55 % A = Galacto-Oligosaccharide

45 % B = Fructo-Polysaccharide

Beispiel 7

Zusammensetzung

20 85 % A = Galacturonsäure-Oligosaccharide

15 % B = Fructo-Polysaccharide

Beispiel 8

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

**Zusammensetzung**

**90 % A = Gluco-Oligosaccharide**

**enzymatisch mittels Glucosyltransferase**

**10 % B = Fructo-Polysaccharide**

5 **Beispiel 9**

**Zusammensetzung**

**90 % A = Fuco-Oligosaccharide**

**enzymatisch aus Algen-Fucoidan**

**10 % B = Fructo-Polysaccharide**

10 **Beispiel 10**

**Zusammensetzung**

**90 % A = Galacto-Oligosaccharide**

**10 % B = Fuco-Polysaccharide**

**enzymatisch aus Algen-Fucoidan**

15 **Beispiel 11**

**Zusammensetzung**

**55 % A = Galacto-Oligosaccharide**

**$\alpha$ -Galacto-Oligosaccharide aus Soja**

**45 % B = Fructo-Polysaccharide (Inulin)**

20 **Beispiel 12**

**Zusammensetzung**

**80 % A = Transgalacto-Oligosaccharide**

**10 % A = Galacturonsäure-Oligosaccharide**

**10 % B = Inulin**

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

**PATENTANSPRÜCHE**

1. Kohlenhydratmischungen für diätetische Nahrungen und Pharmazeutika enthaltend mehrere Kohlenhydrate  
dadurch gekennzeichnet,  
5 daß sie zwei unterschiedliche, im wesentlichen lösliche Kohlenhydratkomponenten A und B, die im Magen-Darm-Trakt unverdaut bleiben und nicht resorbiert bis zum Dickdarm gelangen, enthalten oder daraus bestehen,  
10 die Kohlenhydratkomponente A aus mindestens einem Monosaccharid oder aus mindestens einem Oligosaccharid (Disaccharid bis zu Hexasaccharid) oder aus einer Mischung aus zweien oder mehreren dieser Saccharide aufgebaut ist,  
15 die Kohlenhydratkomponente B aus einem Polysaccharid (ab Hexasaccharid) oder aus einer Mischung aus zwei oder mehreren Polysacchariden aufgebaut ist,  
die Kohlenhydratkomponente A = 5 bis 95 Gew.-% und die Kohlenhydratkomponente B = 5 bis 95 Gew.-% der Summe der Kohlenhydratkomponenten A + B ( = 100 Gew.-%) ausmachen, und  
mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkomponente A und B präbiotisch wirken.  
20
2. Kohlenhydratmischungen nach Anspruch 1,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß die Kohlenhydrate/Saccharide, welche die Kohlenhydratkomponente A ausmachen, eine andere Struktur besitzen als die Kohlenhydrate/Saccharide, welche die Kohlenhydratkomponente B ausmachen.  
25
3. Kohlenhydratmischungen nach Anspruch 1 oder 2,  
dadurch gekennzeichnet,  
daß mindestens 80 Gew.-% der Kohlenhydrate/ Saccharide der

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

Kohlenhydratkompone nte A und B Milchsäurebakterien fördern und/oder bifidogen sind.

4. Kohlenhydratmischungen nach einem der Ansprüch 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet,  
5 daß der Gewichtsanteil der Kohlenhydratkompone nte A größer ist als der Gewichtsanteil der Kohlenhydratkompone nte B
5. Kohlenhydratmischungen nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Kohlenhydratkompone nte A 95 bis 60 Gew.-% und die 10 Kohlenhydratkompone nte B 5 bis 40 Gew.-% ausmachen, wobei A + B = 100 Gew.-%.
6. Kohlenhydratmischungen nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Kohlenhydratkompone nte A ca. 90 Gew.-% und die Kohlenhydratkompone nte B ca. 10 Gew.-% ausmachen.
7. Kohlenhydratmischungen nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone nten A und B keine Glucoseeinheiten in  $\alpha$ 1-4 und/oder in  $\alpha$ 1-6-Bindung 20 aufweisen.
8. Kohlenhydratmischungen nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone nte B aus maximal bis zu 100 Monosaccharideinheiten aufgebaut sind.
9. Kohlenhydratmischungen nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet,

WO 00/08948

PCT/EP99/05878

daß mindestens 60 Gew.-% und insbesondere 80 bis 100 Gew.-% der Kohlenhydrate/Saccharide der Kohlenhydratkompone nte A zur Gruppe der Galactooligosaccharide und mindestens 60 Gew.-% und insbesondere 80 bis 100 Gew.-% der Kohlenhydrate/Saccharide der 5 Kohlenhydratkompone nte B zur Gruppe der Fructopolysaccharide gehören.

10. Kohlenhydratmischungen nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß sie neben den Kohlenhydraten/Sacchariden der Kohlenhydratkompone nten A und B ein unlösliches Kohlenhydrat oder ein lösliches und verdaubares Kohlenhydrat oder eine Mischung aus einem oder mehreren dieser Kohlenhydrate enthalten

15. Diätetisches oder pharmazeutisches Mittel enthaltend eine Kohlenhydratmischung nach einem der vorhergehenden Ansprüche

12. Verwendung der Kohlenhydratmischungen nach einem der vorhergehenden Ansprüche 1 bis 10 zur Förderung der humanen Dickdarmflora, zur Förderung des Milchsäurebakterienwachstums, in Babynahrung oder zur Herstellung von Babynahrung.